

FATORES DE TRANSCRIÇÃO DA FAMÍLIA AP2/ERF E RESPOSTA EM PLANTAS AOS ESTRESSES ABIÓTICOS

Tania Mayumi Ito¹
Maria Caroline Rampim²
Polyana Barros Polido¹
Silvia Graciele Hülse de Souza^{3*}

ITO, T. M.; RAMPIM, M. C.; POLIDO, P. B.; SOUZA, S. G. H. de. Fatores de transcrição da família AP2/ERF e resposta em plantas aos estresses abióticos. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, Umuarama, v. 15, n. 2, supl. 1, p. 207-214, jul./dez. 2012.

RESUMO: Em seu ambiente natural, as condições de água e temperatura são altamente variáveis, e podem afetar a sobrevivência, o crescimento e reprodução das plantas. Para sobreviver em tais condições, as plantas respondem, desenvolvendo uma complexa rede de sinalização em nível molecular, celular e bioquímico. A regulação gênica em nível de transcrição é um dos principais pontos no controle dos processos biológicos, sendo que os fatores de transcrição (TFs) desempenham um papel fundamental nesse processo. A família AP2/ERF é uma grande família de TFs específico de plantas que compartilham um domínio conservado de ligação ao DNA. Essa família de TFs incluía proteínas da subfamília DREB que desempenham um papel crucial na resposta das plantas a estresses abióticos, reconhecendo o elemento responsivo à desidratação com um motivo central A/GCCGAC. As proteínas da subfamília de fatores de resposta ao etileno estão envolvidas em respostas aos estresses bióticos e abióticos, reconhecendo o elemento *cis-acting* AGCGGCC denominado GCC-box. Nesta revisão foi discutido o papel dos TFs AP2/ERF em condições de estresse abiótico e suas implicações funcionais em estudos de expressão gênica. A compreensão dos determinantes genéticos da tolerância aos estresses abióticos constitui um passo importante nos programas de melhoramento genético.

PALAVRAS-CHAVE: Transdução de sinal; Resposta ao estresse; Domínio AP2.

TRANSCRIPTION FACTORS OF THE AP2/ERF AND PLANTS RESPONSES TO ABIOTIC STRESS

ABSTRACT: In their natural environment, temperature and water conditions are highly variable and may affect the survival, growth and reproduction of plants. In order to survive under such conditions, plants respond by developing a complex network of signaling at molecular, cellular and biochemical level. The gene regulation at the transcription level is one of the major points in the control of biological processes, and transcription factors play a key role in this process. The AP2/ERF family is a large family of plant-specific transcription factors that share a conserved DNA-binding domain. This transcription factor family includes a subfamily of DREB proteins that plays a crucial role in the plant response to abiotic stresses, recognizing the dehydration responsive element with a central motif A/GCCGAC. The proteins from the subfamily of ethylene response factors are involved in responses to biotic and abiotic stresses recognizing the *cis-acting* element AGCGGCC called GCC-box. In this review, the authors discuss the role of AP2/ERF transcription factors in abiotic stress conditions and their functional implications in gene expression studies. Understanding the genetic determinants of abiotic stress tolerance is an important step in breeding programs.

KEYWORDS: Signal transduction; Stress responses; AP2-domain.

FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN DE LA FAMILIA AP2/ERF Y RESPUESTA EN PLANTAS A ESTRESSES ABIÓTICOS

RESUMEN: En su ambiente natural, las condiciones del agua y temperatura son altamente variables, y pueden afectar la supervivencia, el crecimiento y reproducción de las plantas. Para sobrevivir en tales condiciones, las plantas responden, desarrollando una compleja red de señalización en nivel molecular, celular y bioquímico. La regulación génica en nivel de transcripción es uno de los principales puntos en el control de los procesos biológicos, considerando que los factores de transcripción (TFs) desempeñan un papel importante en ese proceso. La familia AP2/ERF es una gran familia de TFs específico de plantas que comparten un dominio conservado de unión al ADN. Esa familia de TFs incluye proteínas de la subfamilia DREB que desempeñan un papel crucial en la respuesta de las plantas a estreses abióticos, reconociendo el elemento responsivo a la deshidratación con un motivo central A/GCCGAC. Las proteínas de la subfamilia de factores de respuesta al etileno están involucradas en respuestas a los estreses bióticos y abióticos, reconociendo el elemento *cis-acting* AGCGGCC denominado GCC-box. En esta revisión se discutió el papel de los TFs AP2/ERF en condiciones de estrés abiótico y sus implicaciones funcionales en estudios de expresión génica. La comprensión de los determinantes genéticos de tolerancia a estreses abióticos

¹Mestranda em Biotecnologia Aplicada a Agricultura, Universidade Paranaense – UNIPAR, Praça Mascarenhas de Moraes 4282, Cx Postal 224, 87502-210, Umuarama, Paraná. E-mail: saradesf@hotmail.com; polypolido@gmail.com;

²Discente do Curso de Farmácia, Universidade Paranaense – UNIPAR, Praça Mascarenhas de Moraes 4282, Cx Postal 224, 87502-210, Umuarama, Paraná. E-mail: carolinerampim@hotmail.com;

³Docente do Programa de Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Universidade Paranaense – UNIPAR, Praça Mascarenhas de Moraes 4282, Cx Postal 224, 87502-210, Umuarama, Paraná. *Autor correspondente, E-mail: silviahulse@unipar.br.

constituye un paso importante en los programas de mejoramiento genético.

PALABRAS CLAVE: Transducción de señal; Respuesta al estrés; Dominio AP2.

Introdução

Em seu ambiente natural as plantas estão expostas as diferentes alterações ambientais, incluindo àquelas afetadas pela água e temperatura, assim como pelas injúrias causadas pelo ataque de pragas e doenças. Como consequência, esses fatores causam um grande impacto no crescimento e na produtividade agrícola. Desta forma, para sobreviver e se desenvolver nos diferentes ambientes, as plantas desenvolveram uma complexa rede de sinalização molecular e celular (SHARMA et al., 2010).

O hormônio etileno é importante em vários processos fisiológicos que ocorrem nas plantas, sendo indutor de respostas relacionadas aos diferentes estresses. Como a taxa de transcrição de um gene é importante determinante de sua expressão, os mecanismos moleculares pelos quais a transcrição gênica é regulada têm interesse crescente e têm se tornado um dos tópicos principais de estudos em genética molecular envolvendo o etileno. A regulação gênica em nível transcricional é um dos principais pontos de controle dos processos biológicos, sendo que os fatores de transcrição (TFs) desempenham papel fundamental nesse processo (JOFUKU et al., 1994; SHARMA et al., 2010). Entre os diferentes TFs, os denominados *Ethylene Response Factor* (ERF) são vitais para o desenvolvimento das plantas e importantes reguladores das respostas de defesa das plantas (BROWN et al., 2003; CHAMPION et al., 2009).

Os ERFs são, portanto, os últimos elementos da cascata transcricional que constituem uma grande família multigênica. Os TFs pertencentes à família ERF fazem parte da super família AP2/ERF. As famílias AP2 e RAV são caracterizadas pela presença do domínio AP2, que por sua vez é caracterizado por 60-70 aminoácidos implicados na ligação ao DNA (RIECHMANN et al., 2000). As proteínas da família ERF contêm um único domínio AP2, enquanto as proteínas da família AP2 contêm dois domínios repetidos AP2 (JOFUKU et al., 1994). As proteínas da família RAV, além do domínio AP2, contêm um domínio B3, que é um domínio de ligação ao DNA (KAGAYA; OHMIYA; HATTORI, 1999; NAKANO et al., 2006). A família ERF por sua vez, apresenta uma subdivisão em duas subfamílias, ERF_e CBF/DREB (JOFUKU et al., 1994; SAKUMA et al., 2002; NAKANO et al., 2006). De modo geral, os genes da subfamília ERF estão envolvidos principalmente em respostas a estresses bióticos, reconhecendo o elemento *cis-acting* AGCCGCC denominado GCC-box (HAO et al. 1998). Genes da subfamília CBF/DREB desempenham um papel crucial na resposta das plantas a estresses abióticos, reconhecendo o elemento responsivo a desidratação (*Dehydration Responsive Element* - DRE) com um motivo central A/GCCGAC (SHINOZAKI; SHINOZAKI, 1994; THOMASHOW, 1999).

Fatores de transcrição das subfamílias ERFs e CBF/DREB foram identificados em várias espécies vegetais, incluindo *Arabidopsis* (SAKUMA et al., 2002; NAKANO et al., 2006), arroz (NAKANO et al., 2006; SHARONE et al., 2011), algodão (CHAMPION et al., 2009), soja (ZHANG et al., 2008), álamo (ZHUANG et al. 2008), uva (LICAUSI et al., 2010), milho (ZHUANG et al., 2010), tomate (SHARMA

et al., 2010), trigo (ZHUANG et al., 2011) e maçã (GIRARDI et al., 2013).

Considerando a importância dos fatores de transcrição AP2/ERF, nessa revisão foi discutida a função e a regulação dos membros das subfamílias DREB e ERF nas respostas das plantas quando submetidas aos estresses abióticos e suas implicações funcionais em estudos de expressão gênica.

Reposta aos Estresses Abióticos

As plantas são expostas às condições ambientais adversas como seca, salinidade e temperaturas extremas durante o ciclo de vida. Esses fatores ambientais limitam severamente o crescimento e a produtividade agrícola. Entre todos os tipos de estresses abióticos, a desidratação e os extremos de temperatura são os que mais afetam o desenvolvimento vegetal. As plantas respondem ao estresse hídrico e às altas e baixas temperaturas com diversas mudanças relacionadas ao seu desenvolvimento e a sua fisiologia (SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2000). Uma das respostas das plantas aos estresses é a expressão de um grande número de genes, cujos produtos podem estar envolvidos em diversas funções adaptativas em condições de estresse (THOMASHOW, 1999). Genes induzidos durante os estresses abióticos codificam proteínas que não funcionam apenas na proteção das células contra o estresse, mas também na expressão gênica e transdução de sinal em resposta ao estresse (THOMASHOW, 1999; SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2000; ZHU, 2002; SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI; SEKI, 2003).

Para compreender a natureza e a função dos genes envolvidos na tolerância aos estresses, uma intensa pesquisa foi dedicada à identificação e caracterização de genes estresse-induzidos. Segundo Yamaguchi-Shinozaki e Shinozaki (2007), os produtos dos genes induzidos pelo estresse podem ser classificados em dois grupos (Figura 1): no primeiro estão aqueles que protegem a planta contra os estresses ambientais; e no segundo aqueles que regulam a expressão gênica e a transdução de sinais de resposta a estresses.

O primeiro grupo inclui as proteínas que, provavelmente funcionam na tolerância ao estresse abiótico, e inclui as chaperonas, proteínas LEA (*late embryogenesis abundant*), osmotinas, proteínas anticongelantes, proteínas de ligação de mRNA, enzimas chave para a biossíntese de osmólitos, aquaporinas, transportadores de açúcar e prolina, enzimas detoxificadoras e diferentes proteases. O segundo grupo, envolvido na transdução de sinais, estão os fatores de transcrição que desempenham papel fundamental na resposta da planta ao estresse, e incluem ainda as proteínas quinases, fosfatases, enzimas envolvidas no metabolismo de fosfolípidos, e outras moléculas sinalizadoras (SEKI et al., 2003; MARUYAMA et al. 2004). Muitos fatores de transcrição são induzidos pelo estresse, sugerindo que diferentes mecanismos regulatórios transcricionais podem funcionar regulando a sinalização das vias de transdução ao estresse a seca, o frio ou a salinidade (SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2007).

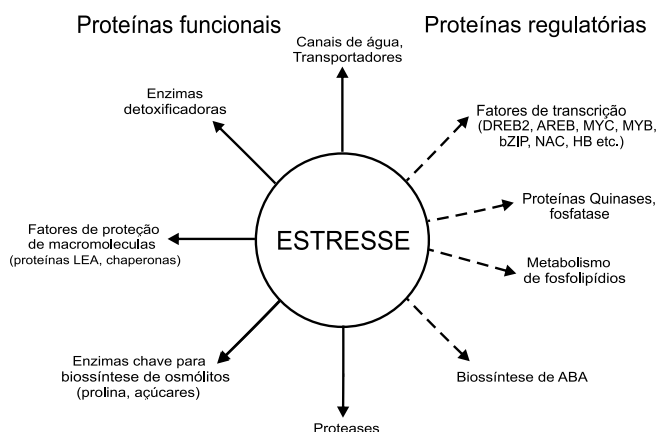


Figura 1: Genes induzidos durante o estresse hídrico e ao frio e suas possíveis funções na tolerância e resposta ao estresse (adaptado de SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2007).

Segundo Shinozaki e Yamaguchi-Shinozaki (2007) existem pelo menos seis vias de transdução de sinais para desencadear a modulação de genes induzidos por seca, alta salinidade e frio, sendo três dependentes de ABA e três independentes (Figura 2). Nas vias dependentes de ABA, ABRE (*ABA-responsive element*) é o principal elemento em resposta ao ABA e os TFs envolvidos nessa via são os AREB/ABFs (*ABRE-binding protein / ABRE-binding factor*). MYB2 e MYC2 e NAC são outros TFs que também atuam na expressão gênica induzida por ABA, também são sensíveis ao ácido jasmônico (JA) e podem estar relacionados à resposta a estresses bióticos. Enquanto nas vias independentes de ABA, DRE (*dehydration-responsive element*) é o principal elemento envolvido na regulação de genes induzidos por seca, salinidade e frio. Os fatores DREB1/CBFs (*DRE-binding protein / C-repeat-binding factor*) estão envolvidos na expressão gênica em resposta ao frio e os DREB2s na resposta a desidratação e alta salinidade. A terceira via independente de ABA é controlada por seca e salinidade, mas não por frio e envolve os fatores de transcrição NAC e HD-ZIP (*homeo-domain Leuzipper*).

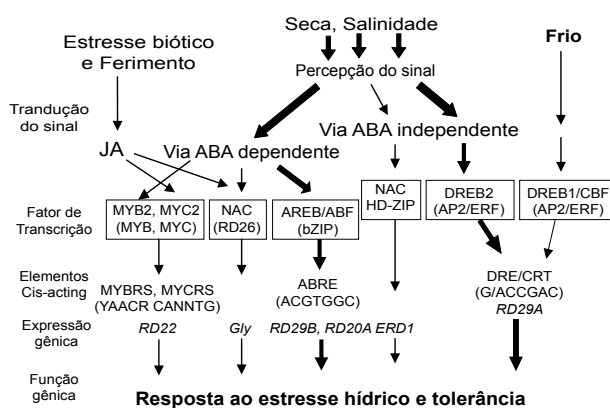


Figura 2: Vias de transdução de sinal via ABA dependente e independente. ABRE é o principal elemento em resposta a ABA e os fatores de transcrição dessa via são os AREB/ABFs. MYB2 e MYC2 e NAC também são induzidos por ABA, sensíveis ao JA e podem estar relacionados à resposta a estresses bióticos. DRE é o principal elemento das vias independentes de ABA, os fatores DREB1/CBFs estão envolvidos na resposta ao frio, DREB2s na resposta a desidratação e alta salinidade e NAC e HD-ZIP à seca e salinidade, mas não ao frio. (SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2007).

Muitos genes reguladores chave, capazes de controlar um subgrupo de genes, TFs e sinalizadores celulares envolvidos na tolerância aos estresses em plantas já foram descritos e seu uso pode ser interessante no melhoramento de várias espécies via engenharia genética, já que eles podem regular a expressão de muitos genes (UMEZAWA et al., 2006).

Fatores de Transcrição

Os TFs são importantes reguladores da expressão gênica. Em geral, um TF é composto por pelo menos dois domínios distintos, um domínio de ligação ao DNA e um domínio de ativação/repressão, que operam em conjunto para regular os diferentes processos fisiológicos e bioquímicos, modulando a taxa de iniciação da transcrição dos genes alvo (PTASHNE, 1988). As plantas atribuem grande parte do seu genoma aos TFs. Mais de 1600 genes (7% do genoma) foram identificados em *Arabidopsis* (RIECHMANN et al., 2000), revelando a complexidade da regulação em nível transcricional. De acordo com os tipos de domínios de ligação ao DNA, os TFs em eucarióticos foram classificados em diversas famílias. Durante as duas últimas décadas foi mostrado que os TFs da superfamília AP2/ERF desempenham um papel importante no controle genético do desenvolvimento floral e na resposta a estresses bióticos e abióticos (SHARMA et al., 2010).

Superfamília AP2/ERF

A superfamília AP2/ERF é caracterizada pela presença do domínio AP2/ERF, composto por 60-70 aminoácidos implicados na ligação ao DNA (JOFUKU et al., 1994; HAO et al., 1998; RIECHMANN et al., 2000). O domínio de ligação ao DNA AP2/ERF é específico de plantas, apesar de haver relatos em ciliados, bactérias e bacteriófagos contendo endonucleases desse domínio (MAGNANI et al., 2004). A superfamília AP2/ERF foi dividida em três famílias com base no número de domínios AP2 presentes (SAKUMA et al., 2002; NAKANO et al., 2006). As proteínas da família AP2 contêm dois domínios repetidos AP2/ERF (JOFUKU et al., 1994); as proteínas da família RAV, além de um único domínio AP2/ERF, contêm um domínio B3, que é um domínio de ligação ao DNA, conservado em outros TFs, incluindo VP1/ABI3 (KAGAYA et al., 1999; SAKUMA et al., 2002; NAKANO et al., 2006), e as proteínas da família ERF contêm um único domínio AP2/ERF. A família ERF, por sua vez, é dividida em duas subfamílias principais; a subfamília ERF e a subfamília CBF/DREB (SAKUMA et al., 2002; NAKANO et al., 2006). Os membros dos grupos I, II, III, IV são caracterizados pela presença de uma valina na posição 14 e um ácido glutâmico na posição 19 do domínio AP2. Esses membros são classificados como DREBs (*Dehydration Response Element Binding*); enquanto os membros dos grupos V, VI, VII, VIII, IX e X são denominados de ERFs e são caracterizados por uma alanina e um ácido aspártico, respectivamente, nas posições 14 e 19 do domínio AP2 (Figura 3) (SAKUMA et al., 2002).

Classificação da Família AP2/ERF

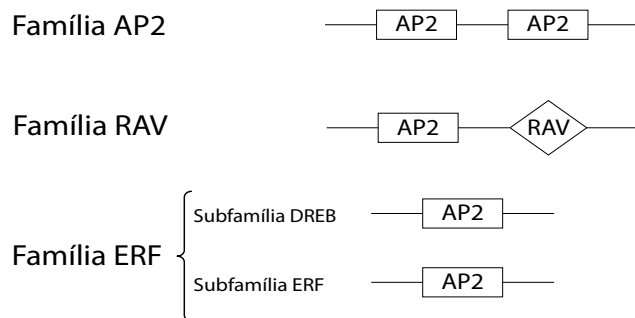


Figura 3: Organização estrutural da superfamília AP2 (adaptado de SHARONI et al., 2011).

Subfamília DREB

Segundo Nakano et al. (2006) os TFs DREBs podem ser divididos em 4 grupos (I, II, III e IV) com base em semelhanças no domínio de ligação. Esses TFs reconhecem o elemento CRT/DRE responsivo ao frio e a desidratação. Esses elementos estão presentes nas regiões dos promotores de muitos genes responsivos ao frio e a desidratação em arábido, incluindo COR (cold-regulated) (SHINOZAKI; SHINOZAKI, 1994; THOMASHOW, 1999). A expressão constitutiva dos genes CBF em plantas transgênicas de arábido resultou na indução da expressão do gene COR e um aumento da tolerância ao congelamento, sem estímulo de baixa temperatura (KASUGA et al., 1999; GILMOUR et al., 2000). Significativamente, várias alterações bioquímicas são associadas com a aclimação ao frio. Gilmour et al. (2000) mostraram que em plantas transgênicas de arábido que expressam constitutivamente CBF3 houve acúmulo de açúcares e de prolina em plantas não aclimatadas, o que pode contribuir para o aumento da tolerância ao congelamento. Além disso, Gilmour et al. (2000) propuseram que os genes CBF atuam na ativação de múltiplos componentes em resposta a aclimação ao frio.

Além da indução ao frio, Huang, Jin e Liu (2008) demonstrou que a expressão de *GhDBP2* de algodão é induzido pela seca, salinidade e ABA. Trabalhos têm mostrado que alguns DREBs, como é o caso de *GhDBP2* podem estar envolvidos na regulação de alguns genes do tipo LEA (*Late Embryogenesis Abundant*) (KIZIS; PAGES, 2002; HUANG; JIN; LIU, 2008). Essas proteínas acumulam-se durante os estágios avançados da embriogênese e também em tecidos expostos a estresses como desidratação, estresse osmótico e baixa temperatura (HONG-BO et al., 2005). *GhDBP3* está envolvido no caminho de sinalização do estresse osmótico e o ABA participa da regulação da resposta a esses estresses ambientais (HUANG; LIU, 2006). Resultados semelhantes foram encontrados em *TINY2* em arábido, membro do grupo III (NAKANO et al., 2006). Esse que foi expresso em baixos níveis em plantas não tratadas, entretanto foi significativamente induzida após tratamento com ABA, NaCl e seca (WEI et al., 2005).

Poucos trabalhos foram realizados a fim de estudar o papel dos DREBs em resposta ao estresse térmico, embora análises *in silico* tenham mostrado que os genes contendo

DRE/CRT podem ser induzidos por choque térmico (GEISLER et al., 2006). Sakuma et al. (2006) mostrou que a indução da expressão ao estresse térmico de HsfA3 em arábido depende de *DREB2A*. Chen et al. (2010) demonstraram que HsfA3 também é transcricionalmente ativado durante o choque térmico por DREB2C. Em plantas transgênicas de arábido, a super expressão constitutivamente de *DREB2A* de Arábido e *ZmDREB2A* de milho ativou a expressão de muitos genes induzidos por estresse ao calor, tais como proteínas de choque térmico (Hsps) e HsfA3 cuja indução resultou em uma maior tolerância (QIN et al., 2007; SCHRAMM et al., 2008).

Subfamília ERF

Os membros da subfamília ERF ligam-se ao elemento cis-regulatório, denominado GCC-box nas regiões promotoras dos genes relacionadas à patogênese regulando sua expressão em resposta ao etileno. Análise detalhada *in vitro* da ligação de três ERFs de tabaco indicaram que os contatos de aminoácidos específicos dos ERFs limitam-se a 6pb (GCCGCC), em que G1, G4eC6 são essenciais para que haja a ligação (HAO et al., 1998). Essas sequências podem também modular diferentes ligações por diferentes ERFs.

O gene Tsi1 (*Tobacco stress-induced gene 1*) confere resistência tanto ao ataque de patógenos como ao estresse osmótico quando super expresso. Dessa forma, demonstra que o domínio AP2/ERF pode se ligar tanto a GCC-box, bem como com o elemento DRE (PARK et al., 2001). Mais tarde, diversas proteínas ERFs capazes de se ligar a GCC-box e DRE foram identificadas e incluem DREB2A (SAKUMA et al., 2002), CBF1 (HAO et al., 2002), JERF1 (ZHANG et al., 2004), eBnDREBIII-1 (LIU et al., 2006), sugerindo que as vias de sinalização mediada por DREB e ERF não são exclusivas; e que existe uma comunicação cruzada (*crosstalk*) entre elas (LEE et al., 2004; ZHANG et al., 2008). A super expressão de genes da família do ERF em arábido ou tabaco tem demonstrado conferir maior resistência a estresses bióticos e abióticos (PARK et al., 2001; BERROCAL-LOBO et al., 2002; XU et al., 2007; PAN et al., 2010).

Combinando abordagens genético-moleculares, uma série de genes reguladores da subfamília ERF envolvidos em diferentes vias metabólicas têm sido analisados, incluindo aqueles relacionados à seca (YAMAGUCHI-SHINOZAKI; SHINOZAKI, 2006; DUBOUZET et al., 2003), salinidade (DUBOUZET et al., 2003), baixa temperatura (YANG et al., 2005; QIN et al., 2007) e doenças (GUTTERSON; REUBER, 2004). Além da resposta a estresses abióticos, a subfamília ERF também está envolvida na formação de raízes (BANNO et al., 2001), germinação (PIRRELLO et al., 2006) e desenvolvimento de frutos e maturação (WANG et al., 2007; EL-SHARKAWY et al., 2009).

Trabalhos têm mostrado que pode existir uma expressão grupo-específica. As proteínas do grupo VII estão associadas à maturação em frutos. Os membros do grupo VII possuem o motivo conservado MCGGAIL/L identificado por Tournier et al. (2003). Esse autor demonstrou que *SIERF2* se liga a GCC-box desempenhando um importante papel durante o processo de maturação em tomate. O mesmo foi observado por Yin et al. (2010) em diferentes ERFs expressos durante o processo de maturação dos frutos de kiwi. *MdERF1* em

maça (WANG et al., 2007), *PsERF2a* e *PsERF2b* em ameixa (EL-SHARKAWY et al., 2009) e *AdERF10* e *AdERF14* em kiwi (YIN et al., 2010) são proteínas que se expressam durante a maturação nos frutos pertencentes ao grupo VII. Bustamante-Porras et al. (2005) isolou em *Coffea canephora* um gene ERF (CoERF) cuja expressão demonstrou estar envolvida nos processos de diferenciação celular e na maturação de frutos. Entretanto, trabalhos têm mostrado que esse grupo também pode estar envolvido nas respostas aos diferentes estresses. Jin et al. (2010) observou que quando as plantas de algodão eram tratadas com etileno, ácido abscísico, sal, frio e seca, os transcritos de *GhERF2*, *GhERF3* e *GhERF6* foram rapidamente elevados. O mesmo foi observado por Wang et al. (2010) em *GoDREB* de *Galega orientalis*. A super expressão de *GoDREB* em plantas transgênicas de tabaco resultou num aumento da tolerância à salinidade.

O motivo EAR (ERF-associated amphiphilic repression EAR) é encontrado em membros do grupo VIII. Ohta et al. (2001) identificaram um motivo EAR que tem se mostrado funcionar como um domínio de repressão. O motivo EAR de sequência conservada, (L/F) DLN (L/F) xP, encontra-se nas regiões C-terminal do grupo VIII. Esse motivo foi identificado em várias proteínas repressoras incluindo ZAT7, 10, 12, ERF3, AUX/IAA, NIMIN1, HSI2, SUPERMAN (arabidopsis), NRR (arroz), ZFT1 (tabaco) e ZPT2-3 (petunia), que desempenham diferentes funções que vão desde o desenvolvimento das plantas até a tolerância aos diferentes estresses (TIWARI et al., 2004; HIRATSU et al., 2004; KAZAN, 2006). Dois membros do grupo VIII, AtERF4 e AtERF7 foram bem caracterizados. Ambas as proteínas regulam negativamente o gene *PDF1.2*, no qual contem GCC-box na região promotora. AtERF4 demonstrou ser um regulador negativo da expressão de etileno, JA e genes ABA-responsivos (OHTA et al., 2001; McGRATH et al., 2005). Além disso, foi mostrado que AtERF7 atua como um regulador negativo nas respostas ao ABA (YANG et al., 2005). Pan et al. (2010) mostrou que *SIERF3* foi induzido pelo frio, seca e sal. A super expressão de plantas transgênicas que tiveram o motivo EAR deletado induziu a expressão de genes como *PR1*, *PR2* e *PR5* aumentando a tolerância a *Ralstonia solanacearum*. Por outro lado, Zhang et al. (2010) demonstrou que a expressão de *GmERF4* em soja foi induzido pelo etileno, JA, o frio, o sal, a seca, e o vírus do mosaico da soja. As plantas transgênicas de tabaco *GmERF4* mostraram reprimir a expressão da GCC-box contendo os genes *PR1*, *PR2*, *PR4*, osmotina e SAR8.2. A expressão constitutiva dessas plantas promoveu um aumento da tolerância aos estresses salino e a seca, porém suscetíveis a infecção bacteriana. Dessa forma, os membros das proteínas ERFs que contêm o motivo EAR são capazes de se expressar diferencialmente e alguns deles podem ser induzidos por estresses bióticos e abióticos (FUJIMOTO et al., 2000).

Considerações Finais

Muitos fatores da transcrição da família AP2/ERF diferentes espécies mostraram estar envolvidos na resposta das plantas aos estresses abióticos. As plantas desenvolveram múltiplas vias de sinalização para sobreviver aos diferentes estresses abióticos. A família de TFs ERF constitui uma ampla categoria de genes responsivos aos estresses que

estão envolvidos na mediação aos estresses abióticos via sinalização. O controle da regulação pela família ERF e os seus genes alvos é fundamental para o entendimento de como as plantas respondem aos estresses ambientais e desenvolveram a tolerância aos estresses abióticos, que constitui um passo importante nos programas de melhoramento genético.

Referências

- BANNO, H. et al. Overexpression of Arabidopsis ESR1 induces initiation of shoot regeneration. **The Plant Cell**, Rockville, v. 13, n. 12, p. 2609-2618, 2001.
- BERROCAL-LOBO, M. et al. Constitutive expression of ethylene-response-factor1 in Arabidopsis confers resistance to several necrotrophic fungi. **The Plant Journal**, Oxford, v. 29, n. 1, p. 23-32, 2002.
- BROWN, R. L. et al. A role for the GCC-box in jasmonate-mediated activation of the PDF1.2 gene of Arabidopsis. **Plant Physiology**, New York, v. 132, n. 2, p. 1020-1032, 2003.
- BUSTAMANTE-PORRAS, J. et al. Isolation and characterization of a *Coffea canephora* ERF-like cDNA. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 4, p. 157-159, 2005.
- CHAMPION, A. et al. Molecular diversity and gene expression of cotton ERF transcription factors reveal that group IXa members are responsive to jasmonate, ethylene and Xanthomonas. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v. 10, n. 4, p. 471-485, 2009.
- CHEN, H. et al. Arabidopsis DREB2C functions as a transcriptional activator of HsfA3 during the heat stress response. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v. 15, n. 401, p. 238-244, 2010.
- DUBOUZET, J. G. et al. Osdrebggenes in rice, *Oryza sativa* L. encode transcription activators that function in drought-, high-salt- and cold-responsive gene expression. **The Plant Journal**, Oxford, v. 33, n. 4, p. 751-763, 2003.
- EL-SHARKAWY, I. et al. Molecular characterization of seven genes encoding ethylene-responsive transcriptional factors during plum fruit development and ripening. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 60, n. 3, p. 907-922, 2009.
- FUJIMOTO, S. Y. et al. Arabidopsis ethylene-responsive element binding factors act as transcriptional activators or repressors of GCC box-mediated gene expression. **The Plant Cell**, Rockville, v. 12, n. 3, p. 393-404, 2000.
- GEISLER, M. et al. A universal algorithm for genome-wide in silico identification of biologically significant gene promoter putative cis-regulatory-elements; identification of new elements for reactive oxygen species and sucrose signaling in Arabidopsis. **The Plant Cell**, Rockville, v. 45,

n. 3, p. 384-398, 2006.

GILMOUR, S. J. et al. Overexpression of Arabidopsis CBF3 transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation. **Plant Physiology**, New York, v. 124, n. 4, p. 1854-1865, 2000.

GIRARDI, C. L. et al. Genome-wide analysis of the AP2/ERF superfamily in apple and transcriptional evidence of ERF involvement in scab pathogenesis. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 151, p. 112-121, 2013.

GUTTERSON, N.; REUBER, T. L. Regulation of disease resistance pathways by AP2/ERF transcription factors. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 7, n. 4, p. 465-471, 2004.

HAO, D. et al. Unique mode of GCC box recognition by the DNA-binding domain of ethylene responsive element-binding factor (ERF domain) in plants. 1. **Biological Chemistry**, Berlin, v. 273, p. 26857-26861, 1998.

HAO, D. et al. Determinants in the sequence specific binding of two plant transcription factors, CBF1 and NtERF2, to the DRE and GCC motifs. **Biochemistry**, New York, v. 41, p. 4202-4208, 2002.

HIRATSU, K. et al. Identification of the minimal repression domain of SUPERMAN shows that the DLRLRL hexapeptide is both necessary and sufficient for repression of transcription in Arabidopsis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, New York, v. 321, n. 1, p. 172-178, 2004.

HUANG, B.; LIU, J. Y. Cloning and functional analysis of the novel gene GhDBP3 encoding a DRE-binding transcription factor from *Gossypium hirsutum*. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1759, p. 263-269, 2006.

HUANG, B.; JIN, L.; LIU, J. Y. Identification and characterization of the novel gene GhDBP2 encoding a DRE-binding protein from cotton (*Gossypium hirsutum*). **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 165, p. 214-223, 2008.

HONG-BO, S. et al. LEA proteins in higher plants: structure, function, gene expression and regulation. **Colloids Surf B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 45, n. 3-4, p. 131-135, 2005.

JIN, L. G. et al. Molecular characterization of three ethylene responsive element binding factor genes from cotton. **Journal of Integrative Plant Biology**, Carlton South, v. 52, n. 5, p. 485-495, 2010.

JOFUKU, K. D. et al. Control of Arabidopsis flower and seed development by the homeotic gene APETALA2. **The Plant Cell**, Rockville, v. 6, n. 9, p. 1211-1225, 1994.

KAGAYA, Y.; OHMIYA, K.; HATTORI, T. RAV1, a

novel DNA-binding protein, binds to bipartite recognition sequence through two distinct DNA-binding domains uniquely found in higher plants. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 27, n. 2, p. 470-478, 1999.

KASUGA, M. et al. Improving plant drought, salt and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. **Nature Biotechnology**, New York, v. 17, n. 3, p. 287-291, 1999.

KAZAN, K. Negative regulation of defence and stress genes by EAR-motif-containing repressors. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 11, n. 3, p. 109-112, 2006.

KIZIS, D.; PAGES, M. Maize DRE-binding proteins DBF1 and DBF2 are involved in rab17 regulation through the drought-responsive element in an ABA-dependent pathway. **The Plant Journal**, Oxford, v. 30, n. 6, p. 679-689, 2002.

LEE, J. H. et al. The ethylene-responsive factor like protein 1 (CaERFLP1) of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) interacts in vitro with both GCC and DRE/CRT sequences with different binding affinities: possible biological roles of CaERFLP1 in response to pathogen infection and high salinity conditions in transgenic tobacco plants. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 55, n. 1, p. 61-81, 2004.

LICAUSI, F. et al. Genomic and transcriptomic analysis of the AP2/ERF superfamily in *Vitis vinifera*. **BMC Genomics**, London, v. 11, p. 719, 2010.

LIU, Y. et al. The conserved Ala37 in the ERF/AP2 domain is essential for binding with the DRE element and the GCC box. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 580, n. 5, p. 1303-1308, 2006.

MAGNANI, E. et al. From endonucleases to transcription factors: evolution of the AP2 DNA binding domain in plants. **The Plant Cell**, Rockville, v. 16, n. 9, p. 2265-2277, 2004.

MARUYAMA, K. et al. Identification of cold-inducible downstream genes of the Arabidopsis DREB/CBF3 transcriptional factor using two microarray systems. **The Plant Journal**, Oxford, v. 38, n. 6, p. 982-993, 2004.

MCGRATH, K. C. et al. Repressor- and activator-type ethylene response factors functioning in jasmonate signaling and disease resistance identified via a genome-wide screen of Arabidopsis transcription factor gene expression. **Plant Physiology**, New York, v. 139, n. 2, p. 949-959, 2005.

NAKANO, T. et al. Genome wide analysis of the ERF gene family in Arabidopsis and rice. **Plant Physiology**, New York, v. 140, n. 2, p. 411-432, 2006.

OHTA, M. et al. Repression domains of class II ERF transcriptional repressors share an essential motivo for active repression. **The Plant Cell**, Rockville, v. 13, n. 5, p. 1959-1968, 2001.

- PAN, I. C. et al. Ectopic expression of an EAR motif deletion mutant of SIERF3 enhances tolerance to salt stress and *Ralstonia solanacearum* in tomato. **Planta**, Berlin, v. 232, n. 5, p. 1075-1086, 2010.
- PARK, J. M. et al. Overexpression of the tobacco Tsi1 gene encoding an EREBP/ AP2-type transcription factor enhances resistance against pathogen attack and osmotic stress in tobacco. **The Plant Cell**, Rockville, v. 13, n. 5, p. 1035-1046, 2001.
- PIRRELLO, J. et al. Sl-ERF2, a tomato ethylene response factor involved in ethylene response and seed germination. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 47, n. 9, p. 1195-1205, 2006.
- PTASHNE, M. How eukaryotic transcriptional activators work. **Nature**, London, v. 335, n. 6192, p. 683-689, 1988.
- QIN, F. et al. Regulation and functional analysis of ZmDREB2A in response to drought and heat stresses in *Zea mays* L. **The Plant Journal**, Oxford, v. 50, n. 1, p. 54-69, 2007.
- RIECHMANN, J. L. et al. Arabidopsis transcription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes. **Science**, Washington, v. 290, n. 5499, p. 2105-2110, 2000.
- SAKUMA, Y. et al. DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of Arabidopsis DREBs, transcription factors involved in dehydration- and cold inducible gene expression. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 290, n. 3, p. 998-1009, 2002.
- SCHRAMM, F. et al. A cascade of transcription factor DREB2A and heat stress transcription factor HsfA3 regulates the heat stress response of Arabidopsis. **The Plant Journal**, Oxford, v. 53, n. 2, p. 264-274, 2008.
- SHARONI, A. M. et al. Gene structures, classification and expression models of the AP2/EREBP transcription factor family in rice. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 52, n. 2, p. 344-360, 2011.
- SHARMA, M. K. et al. Identification, phylogeny, and transcript profiling of ERF family genes during development and abiotic stress treatments in tomato. **Molecular Genetics and Genomics**, Berlin, v. 284, n. 6, p. 455-475, 2010.
- SEKI, M. et al. Molecular responses to drought, salinity and frost: common and different paths for plant protection. **Current Opinion of Biotechnology**, London, v. 14, n. 2, p. 194-199, 2003.
- SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SEKI, M. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 6, p. 410-417, 2003.
- SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, n. 2, p. 221-227, 2007.
- _____. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 3, n. 3, p. 217-223, 2000.
- SHINOZAKI, Y. K.; SHINOZAKI, K. A novel cis-acting element in an Arabidopsis gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress. **The Plant Cell**, Rockville, v. 6, n. 2, p. 251-264, 1994.
- THOMASHOW, M. F. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 571-599, 1999.
- TIWARI, S. B.; HAGEN G.; GUILFOYLE, T. J. Aux/IAA proteins contain a potent transcriptional repression domain. **The Plant Cell**, Rockville, v. 16, n. 2, p. 533-543, 2004.
- TOURNIER, B. et al. New members of the tomato ERF family show specific expression pattern and diverse DNA-binding capacity to the GCC box element. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 550, n. 1-3, p. 149-154, 2003.
- UMEZAWA, T. et al. Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future. **Current Opinion of Biotechnology**, London, v. 17, p. 1-10, 2006.
- WANG, A. et al. MdERFs, two ethylene-response factors involved in apple fruit ripening. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, n. 13, p. 3743-3748, 2007.
- WANG, X. et al. Isolation and characterization of GoDREB encoding an ERF-type protein in forage legume *Galega orientalis*. **Genes and Genetics Systems**, Mishima, v. 85, n. 3, p. 157-166, 2010.
- WEI, G. et al. Molecular cloning, phylogenetic analysis, expressional profiling and in vitro studies of TINY2 from *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, Seoul, v. 38, n. 4, p. 440-446, 2005.
- XU, Z. S. et al. Isolation and molecular characterization of the *Triticum aestivum* L. ethylene-responsive factor 1 (TaERF1) that increases multiple stress tolerance. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 65, n. 6, p. 719-732, 2007.
- YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 57, p. 781-803, 2006.

YANG T. W. et al. Transcriptional regulation network of cold-responsive genes in higher plants. **Plant Science**, Shannon, v. 169, n. 6, p. 987-995, 2005.

YIN, X. et al. Kiwifruit EIL and ERF genes involved in regulating fruit ripening. **Plant Physiology**, New York, v. 153, n. 3, p. 1280-1292, 2010.

ZHANG, G. Y. et al. Phylogeny, gene structures, and expression patterns of the ERF gene family in soybean (*Glycine max L.*). **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 59, n. 15, p. 4095-4107, 2008.

ZHANG, G. et al. Isolation and characterization of a novel EAR-motif-containing gene GmERF4 from soybean (*Glycine max L.*). **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 37, n. 2, p. 809-818, 2010.

ZHANG, H. et al. The ethylene, jasmonate, abscisic acid and NaCl-responsive tomato transcription factor JERF1 modulates expression of GCC box-containing genes and salt tolerance in tobacco. **Planta**, Berlin, v. 220, n. 2, p. 262-270, 2004.

ZHU, J. K. Salt and drought stress signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 53, p. 247-273, 2002.

ZHUANG, J. et al. Genome-wide analysis of the AP2/ERF gene family in *Populus trichocarpa*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 371, n. 3, p. 468-474. 2008.

ZHUANG, J. et al. Discovery and expression profile analysis of AP2/ERF family genes from *Triticum aestivum*. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 38, n. 2, p. 745-753, 2011.

ZHUANG, J. et al. Discovery, phylogeny and expression patterns of AP2-like genes in maize. **Plant Growth Regulation**, Boston, v. 62, n. 1, p. 51-58, 2010.